



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
11 DE 4012600 A1

51 Int. Cl. 5:
G01N 1/06
F 25 D 3/10
F 25 D 29/00

21 Aktenzeichen: P 40 12 600.5
22 Anmeldetag: 20. 4. 90
43 Offenlegungstag: 29. 11. 90

DE 4012600 A1

30 Unionspriorität: 29 28 31

26.05.89 AT 1270/89

71 Anmelder:

Reichert-Jung Optische Werke AG, Wien, AT

74 Vertreter:

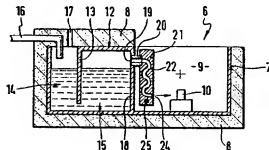
Louis, D., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., 8183
Rottach-Egern; Pöhlau, C., Dipl.-Phys., 8500
Nürnberg; Lohrenz, F., Dipl.-Ing., 8130 Starnberg;
Segeth, W., Dipl.-Phys., Pat.-Anwälte, 8500
Nürnberg

72 Erfinder:

Liht, Reinhard, Dr., Wien, AT

54 Kühlkammer an einem Mikrotom und Verfahren zur Einstellung der Kühlkammertemperatur

Eine Kühlkammer an einem Ultramikrotom mit einem von oben zugänglichen beobachtbaren Kühlkammerraum (9), in welchem ein Objekthalter zur Halterung eines zu bearbeitenden Objekts sowie ein Bearbeitungswerkzeug für das Objekt angeordnet sind. In der Kühlkammer (6) ist außerdem ein Vorratstank (12) zur Aufnahme eines flüssigen Kryogens, z. B. LN_2 , angeordnet, der über eine von oben nach unten führende Zuführleitung (22) für verdampft gasförmiges Kryogen mit dem Kühlkammerraum (9) verbunden ist. Die Zuführleitung (22) ist direkt als regelbar beheizbarer Heizkörper (21) ausgebildet. Hierdurch wird erreicht, daß in den Kühlkammerraum (9) eintretendes gasförmiges Kryogen gleichmäßig auf eine vorbestimmte Temperatur erwärmt werden kann, so daß eine gleichmäßige Temperaturverteilung in dem Kühlkammerraum (9) erzielbar ist (Fig. 2).



DE 4012600 A1

Die Erfindung betrifft eine Kühlkammer an einem Mikrotom, insbesondere an einem Ultramikrotom, mit den Merkmalen gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1.

Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Einstellung der Temperatur der Gasatmosphäre in einer solchen Kühlkammer mit den Merkmalen gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruchs 11.

Bei der Kryopräparation von Objekten, insbesondere von biologischen Objekten, die einer nachfolgenden mikroskopischen oder elektronenmikroskopischen Untersuchung unterzogen werden, ist es erforderlich, die Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammeraum exakt einzustellen. Dabei soll es möglich sein, die Temperatur innerhalb eines relativ breiten Temperaturbereiches von etwa -40°C bis -160°C einzustellen. Während es relativ leicht ist, die Gasatmosphäre in dem Kühlkammeraum in der Nähe der unteren Temperaturgrenze, d. h. in der Nähe von -160°C , einzuregeln, erweist es sich als problematisch, die Temperatur der Gasatmosphäre in dem mittleren und oberen Temperaturbereich so einzustellen, daß sich über den ganzen Kühlkammeraum eine gleichmäßige Temperatur ergibt.

Zahlreiche Objekte erfordern eine Bearbeitungstemperatur, z. B. beim Schneiden, in dem mittleren oder höheren Temperaturbereich, weil sie bei tiefer Temperatur spröde werden und keine sauberen Schnitte ergeben. Die Bearbeitungstemperatur wird durch regelbare Heizwiderstände in dem Objekthalter und in dem Bearbeitungswerkzeug eingestellt. Jedoch ist der Wärmeabfluß aus dem Schneidenbereich des Bearbeitungswerkzeuges und aus der Objektspitze in die kalte Gasatmosphäre des Kühlkammeraumes so groß, daß Schneide- und Objektspitze stets eine nahe der Temperatur der Gasatmosphäre liegende Temperatur aufweisen.

Von einer bekannten Kühlkammer der eingangs angegebenen Art (PCT-Veröffentlichung WO 88/02 851) ist es daher schon bekannt, nicht nur das Bearbeitungswerkzeug und den Objekthalter zu beheizen, sondern auch das den Kühlkammeraum füllende gasförmige Kryogen. Dies erfolgt mittels einer Gasheizplatte, welche über dem Boden des Kühlkammeraumes so angeordnet ist, daß das aus der Mündungsöffnung der Zuführungsluft austretende gasförmige Kryogen darüber hinwegstreifen kann und sich dabei erwärmt.

Es hat sich gezeigt, daß eine einwandfreie Temperaturverteilung der Gasatmosphäre in dem Kühlkammeraum auf diese Weise nicht erzielbar ist. Dies rührt offensichtlich daher, daß nur eine dünne Schicht des über die Heizplatte hinwegreichenden gasförmigen Kryogens auf die gewünschte Temperatur erwärmt wird und im Kühlkammeraum aufsteigt, ohne darin zu einer gleichmäßigen Temperaturverteilung zu führen. Auch können sogar wegen der vorhandenen Temperaturgradienten störende Turbulenzen in der Gasatmosphäre des Kühlkammeraumes auftreten, die nicht nur den normalen Schneidebetrieb stören, sondern sogar ein Eindringen von feuchter Luft in den Kühlkammeraum ermöglichen können. Diese feuchte Luft führt dann zur Frostbildung an Bearbeitungswerkzeug und Objekt, so daß eine einwandfreie Bearbeitung nicht mehr möglich ist.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, eine Kühlkammer der genannten Art so auszubilden und ein solches Verfahren zur Einstellung der Temperatur der Gasatmo-

sphäre in dem Kühlkammeraum vorzuschlagen, daß eine gleichmäßige Temperaturverteilung in der Gasatmosphäre des Kühlkammeraumes erzielbar ist und dadurch das Bearbeitungswerkzeug und das Objekt auf die jeweils gewünschte Temperatur eingestellt werden können.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch eine Ausgestaltung des Kühlwassers gelöst, die im Kennzeichen des Patentanspruchs 1 angegeben ist. Verfahrensmäßig wird die Aufgabe durch die Vorgangsweise gemäß dem Kennzeichen des Patentanspruchs 11 gelöst.

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß eine Erwärmung des in den Kühlkammeraum bereits eingetretenen gasförmigen Kryogens vermieden werden muß und vielmehr dafür zu sorgen ist, daß von vornherein nur gasförmiges Kryogen gleichmäßiger Temperatur einströmt. Da nach der Erfindung die von der Oberseite des Vorratsstanks für das flüssige Kryogen zum Boden des Kühlkammeraumes führende Zufuhrleitung selbst als Heizkörper ausgebildet ist und das abgedampfte gasförmige Kryogen auf seinem Weg in den Kühlkammeraum vollständig umschleift, besteht ausreichend Zeit und Wegstrecke, um eine vollkommen gleichmäßige Erwärmung des Kryogen-Gasstromes bis zur Mündungsöffnung zu erzielen. Dabei kann der Wärmeübergang an den Kryogen-Gasstrom im Inneren des Heizkörpers gezielt beeinflusst werden, indem beispielsweise der Strömungsquerschnitt entsprechend gestaltet wird. So kann sich der Heizkörper über die ganze Breite des Kühlkammeraumes längs einer Wand davon erstrecken und dementsprechend auch der den Strömungsquerschnitt bildende Innenraum davon gestaltet sein. Damit steht eine große Wärmeübergangsfläche zur Verfügung, so daß eine gleichmäßige Erwärmung des Gasstromes gewährleistet ist. Eine zusätzliche Maßnahme kann darin bestehen, den Zufußweg für den Kryogen-Gasstrom im Inneren des Heizkörpers zickzack- oder mäandrierend auszubilden und dadurch zu verlängern.

Die Mündungsöffnung in dem Heizkörper, aus der das gasförmige Kryogen in den Kühlkammeraum eintritt, ist vorzugsweise schlitzförmig und verläuft etwa parallel zum Boden des Kühlkammeraumes in einem geringen Abstand über diesem. Grundsätzlich ist eine solche Mündungsöffnung ausreichend. Von Vorteil ist es jedoch, in der dem Kühlkammeraum zugewendeten Seitenwand des Heizkörpers mehrere Mündungsöffnungen, z. B. in Form übereinander parallel verlaufender Schlitz- oder in Form einer Perforation, anzuordnen. Denn hierdurch ist es möglich, horizontale, nahezu laminare Strömungsschichten in dem Kühlkammeraum zu erhalten, die zu einer entsprechend ruhigen stationären Strömung führen.

Durch eine Regelung der Temperatur des Heizkörpers läßt sich die gewünschte Temperatur des einströmenden gasförmigen Kryogens auf den gewünschten Wert einstellen, so daß ein möglichst geringer Temperaturgradient zwischen dem Bearbeitungswerkzeug und dem Objekt gewährleistet ist.

Weitere Vorteile und Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen anhand der Zeichnungen sowie aus den Unteransprüchen. In den Zeichnungen zeigt

Fig. 1 eine Seitenansicht eines Ultramikrotoms, teilweise im Bereich der Kühlkammer geschnitten;

Fig. 2 einen Querschnitt durch die Kühlkammer längs der Linie II-II in Fig. 1, wobei aus Gründen der Übersichtlichkeit die übrigen Komponenten des Ultramikro-

toms nicht dargestellt sind;

Fig. 3 einen zu Fig. 2 analogen Schnitt durch eine modifizierte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Kühlkammer, und

Fig. 4 einen Schnitt läng der Linie VI-VI in Fig. 3.

Das in Fig. 1 dargestellte Ultramikrotom 1 weist einen Objekt-Trägerarm 2 in Gestalt einer sog. CHRISTENSEN-Brücke auf, an dessen vorderem Ende ein Objekthalter 3 für ein zu bearbeitendes biologisches Objekt 4 angeordnet ist. Auf dem Support 5 des Ultramikrotoms 1 ist eine im Ganzen mit 6 bezeichnete Kühlkammer befestigt. Die Kühlkammer 6 hat im wesentlichen die Form einer Schachtel und weist eine aus gut wärmeleitendem Material bestehenden Innenwand 7 auf, die an ihrer Außenseite durch eine Schicht 8 aus wärmeisolierendem Material allseitig umschlossen ist. In dem Kühlkammer-Innenraum 9 ist ein Bearbeitungswerkzeug 10 in Form eines Messers so angeordnet, daß bei Auf- und Abbewegungen des Objekts 4 relativ zu dem Messer 10 Objektschnitte erzeugt werden können. Aufbau und Wirkungsweise des Ultramikrotoms 1 bezüglich des Schneidevorganges sind von bekannter Art und nicht Teil der vorliegenden Erfindung. Sie bedürfen daher an dieser Stelle keiner näheren Erläuterung.

Gemäß Fig. 2, in der die Kühlkammer 6 nur schematisch wiedergegeben ist, bildet der linke Teil der Kühlkammer 6 einen Vorratstank 12 für ein flüssiges Kryo-gen, vorzugsweise für flüssigen Stickstoff (LN₂), der auch an seiner Oberseite durch die Wärmeisolationsschicht 8 bedeckt ist. Eine Trennwand 13 in dem Vorratstank 12, die sich bis nahe an den Boden des Vorratstanks erstreckt, teilt dessen Innenraum in einen Nachfüllteil 14 und einen Verdampferteil 15. Durch eine Nachfüllleitung 16 kann bei Bedarf weiterer LN₂ nachgefüllt werden. Turbulente Gasströmungen, die beim Nachfüllen entstehen können, werden über eine kleine Öffnung 17 in der Wärmeisolationsschicht 8 abgeleitet und können daher das Temperaturgleichgewicht im Kühlkammerraum 9 nicht beeinflussen.

Der Vorratstank 12 erstreckt sich über die ganze Breite des Kühlkammerinneren 9 und weist an seiner dem Kühlkammerraum 9 zugewendeten Seitenwand 18 über dem LN₂-Spiegel eine schlitzförmige Verbindungsöffnung 19 auf. An diese ist auf nicht näher gezeigte Art eine kurze Verbindungsleitung 20 aus einem schlecht wärmeleitenden Material angeschlossen, an deren äußerem Ende, ebenfalls in nicht näher gezeigter Weise, die Heizkörper 21 befestigt ist. Der Heizkörper 21 hat im wesentlichen die Form eines flachen Quaders und erstreckt sich, wie aus Fig. 1 erkennbar ist, ebenfalls wenigstens über die Breite des Kühlkammerinneren 9. Er bildet die Zuflußleitung für den aus dem LN₂-ab dampfenden gasförmigen Stickstoff zum Kühlkammer-raum 9 und weist zu diesem Zweck einen hohlen Innenraum 22 auf, der zu einer im unteren Teil angeordneten Mündungsöffnung 24 führt. Der Strömungsquerschnitt der Zuflußleitung 22 ist schlitzförmig rechteckig; dem entspricht die Schlitzform der Mündungsöffnung 24, die im wesentlichen parallel zum Boden des Kühlkammer-raumes 9 verläuft. Gemäß Fig. 2 ist die Zuflußleitung 22 außerdem zur Verlängerung des Strömungsweges schlangen- oder zick-zack-förmig im Inneren des Heizkörpers 21 geführt. Im unteren Abschnitt des Heizkörpers 21 ist ein Heizwiderstand 25 eingebaut, der durch eine nicht dargestellte Regelung den Heizkörper 21 auf einer einstellbaren Temperatur hält.

Ist es notwendig, ein Objekt 4 bei einer bestimmten Temperatur zu schneiden, die in einem mittleren Tem-

peraturbereich von beispielsweise -80°C liegt, dann wird mittels der nicht gezeigten Heizwiderstände in dem Objekthalter 3 und in dem Bearbeitungswerkzeug 10 an diesen eine bestimmte Temperatur eingestellt. Die Wärmezufuhr zur Erzeugung dieser vorbestimmten Temperatur erfolgt ebenfalls geregelt durch eine nicht gezeigte Regeleinrichtung, wie dies im Stand der Technik bekannt ist. Außerdem wird durch entsprechende Beheizung des Heizwiderstandes 25 der Heizkörper 21 auf eine bestimmte Temperatur erwärmt. Der von der LN₂-Oberfläche abdampfende gasförmige Stickstoff wird aus dem geschlossenen Verdampferteil 15 in den Heizkörper 21 gedrückt und strömt durch diesen nach unten zur Mündungsöffnung 24. Auf dem Wege dahin nimmt der gasförmige Stickstoff Wärme von den Wandungen des Heizkörpers 21 auf, so daß seine Temperatur sich auf den gewünschten Wert erhöht. Durch nicht gezeigte Sensoren in dem Kühlkammerraum 9 kann die Temperatur des aus der Mündungsöffnung 24 austretenden gasförmigen Stickstoffes überwacht und dementsprechend die Heizleistung des Heizwiderstandes 25 eingeregelt werden. Da dem Kühlkammerraum 9 nur gleichmäßig erwärmtes Stickstoffgas zuströmt, stellt sich dabei eine gleichmäßige Temperaturverteilung ein.

Die Ausführungsform gemäß den Fig. 3 und 4 unterscheidet sich von denjenigen nach den Fig. 1 und 2 durch die Ausgestaltung und Anordnung des Heizkörpers 21'. Im übrigen ist der Aufbau der Kühlkammer identisch, so daß diesbezüglich keine weiteren Erläuterungen gegeben werden müssen.

Der Heizkörper 21' ist im wesentlichen quaderförmig und weist mit einer seiner Schmalseiten zu dem Vorratstank 12', d. h. er ist längs einer der Wandungen 7' der Kühlkammer 6' angeordnet. Auf diese Weise wird bei der Beheizung des Heizkörpers 21' eine geringere Wärmemenge durch Strahlung an den Vorratstank 12' abgegeben. Der Heizkörper 21' ist durch ein Abstützelement 30' aus schlecht wärmeleitendem Material auf dem Boden des Kühlkammerinneren 9' abgestützt und über einen Rohrstutzen 20' aus schlecht wärmeleitendem Material an den Verdampferteil 15' angeschlossen.

Der Innenraum des Heizkörpers 21', der wiederum die Zuflußleitung für den gasförmigen Stickstoff bildet, ist im wesentlichen ebenfalls quaderförmig. Er steht mit dem Kühlkammerraum 9' über eine Reihe von Löchern 24' in Verbindung, die in der dem Kühlkammerraum 9' zugewendeten Seitenwand des Heizkörpers 21' ausgebildet sind. Die Mündungslöcher 24' sind in drei Reihen übereinander angeordnet, so daß der in dem Heizkörper 21' strömende gasförmige Stickstoff durch jede Lochreihe austreten und in den Kühlkammerraum 9' einströmen kann, wie dies durch Pfeile in Fig. 4 angedeutet ist.

Auf diese Weise entsteht eine laminare Schichtströmung, die zu einer gleichmäßigen Temperaturverteilung der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum 9' führt.

Der Heizkörper 21 bzw. 21' besteht zumindest in dem Teil seiner Wandungen, die die Zuflußleitung für den gasförmigen Stickstoff bilden, aus einem gut wärmeleitenden Material. Die Außenflächen des Heizkörpers 21 bzw. 21' können hingegen zur Vermeidung von Wärmeabgabe an die Kühlkammeratmosphäre mit einem schlecht wärmeleitenden Material beschichtet oder aus diesem gebildet sein.

Patentansprüche

1. Kühlkammer an einem Mikrotom, insbesondere

Ultramikrotom, mit einem von oben zugänglichen und beobachtbaren Kühlkammerraum (9, 9'), in welchem ein Objekthalter (3) zur Halterung eines zu bearbeitenden Objekts (4) sowie ein Bearbeitungswerkzeug (10) für das Objekt angeordnet sind, wobei Objekthalter und Bearbeitungswerkzeug zur Einstellung einer gewünschten Temperatur mittels Heizwiderständen gesteuert temperierbar sind, mit einem Vorratstank (12, 12') zur Aufnahme eines flüssigen Kryogens, z. B. LN₂, der über eine in den Kühlkammerraum mündende Zuführleitung für verdampftes, gasförmiges Kryogen mit dem Kühlkammerraum verbunden ist, und mit einem beheizbaren Element im Strömungsweg des gasförmigen Kryogens zur Einstellung einer vorbestimmten Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum, **dadurch gekennzeichnet**, daß das beheizte Element ein die Zuführleitung (22, 22') bildender Heizkörper (21, 21') ist.

2. Kühlkammer nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper (21, 21') in seiner zum Kühlkammerraum (9, 9') gerichteten Seitenwand die Mündungsöffnung (24, 24') für das gasförmige Kryogen aufweist.

3. Kühlkammer nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper (21') in seiner zum Kühlkammerraum (9') gerichteten Seitenwand eine Mehrzahl von übereinander angeordneten Mündungsöffnungen (24') für das gasförmige Kryogen aufweist.

4. Kühlkammer nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündungsöffnungen bzw. die Mündungsöffnungen schlitzförmig sind und sich annähernd parallel zum Boden des Kühlkammer-raumes erstrecken.

5. Kühlkammer nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündungsöffnungen (24') lochförmig sind, wobei jeweils mehrere lochförmige Mündungsöffnungen in einer zum Kühlkammerboden annähernd parallelen Linie nebeneinander angeordnet sind.

6. Kühlkammer nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper und sein den Zuflußweg für das gasförmige Kryogen bildender Innenraum (22) sich über die Breite des Kühlkammer-raumes erstrecken.

7. Kühlkammer nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Zuflußweg für das gasförmige Kryogen im Inneren des Heizkörpers zick-zack-förmig verläuft.

8. Kühlkammer nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper in seinem unteren Teil einen regelmäßigen Heizwiderstand (25, 25') aufnimmt.

9. Kühlkammer nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper an dem Vorratstank (12, 12') über eine schlecht wärmeleitende Verbindungsleitung (20, 20') angeschlossen ist.

10. Kühlkammer nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper im wesentlichen quaderförmig ist und dem Vorratstank mit seiner Schmalseite zugewendet ist.

11. Verfahren zur Einstellung der Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum einer Kühlkammer an einem Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, bei dem von einem Vorrat an flüssigem Kryogen abdampfendes gasförmiges Kryogen

in den Kühlkammerraum geleitet und erwärmt wird, dadurch gekennzeichnet, daß das gasförmige Kryogen auf seinem Zuflußweg von dem Vorrat in den Kühlkammerraum erwärmt wird.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das gasförmige Kryogen durch seinen Strömungsquerschnitt allseitig umschließende Flächen erwärmt wird.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

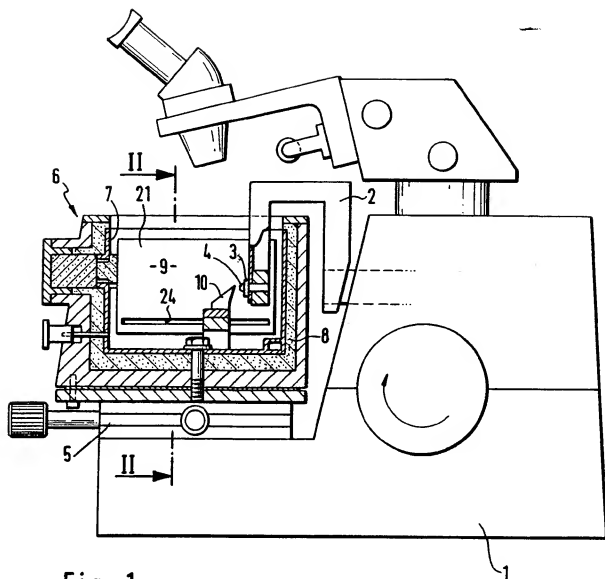


Fig. 1

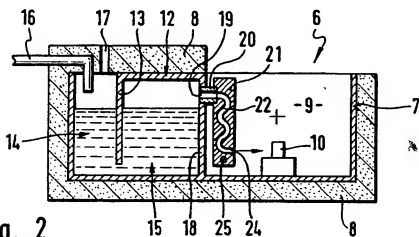


Fig. 2

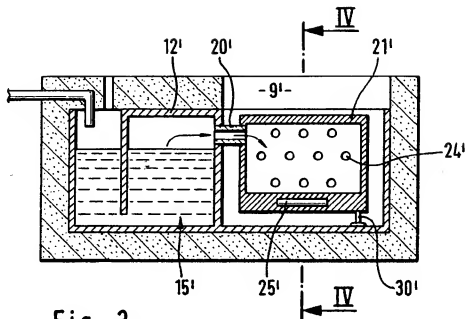


Fig. 3

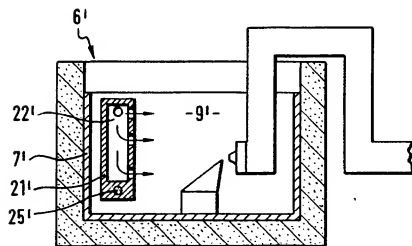


Fig. 4